

青斑核—大脳皮質系電気活動に対するノルアドレナリン性修飾

金沢大学医学部附属病院神経内科 (主任: 高守正治教授)

杉 山 有

(平成1年4月14日受付)

青斑核ノルアドレナリン系ニューロンには、自発放電に対する自己抑制作用と、投射終末からのノルアドレナリン遊離に対する自己抑制作用を有することが知られている。前者は反回性線維から遊離されるノルアドレナリンが、同ニューロンの細胞体に存在する α_2 受容体を活性化することによりおこり、後者は同ニューロンの終末膜から遊離されたノルアドレナリンが、終末膜の α_2 受容体を活性化し、終末膜興奮性を低下させることによると考えられている。本研究では、これらの自己抑制作用に対するノルアドレナリン再取り込み阻害ないしは遊離促進作用を持つ薬剤の効果が、薬剤や部位によらず一律なものか否かを調べることを目的とし、インデロキサジンとアマンタジンを投与した際の、青斑核ニューロン細胞体と終末膜の興奮性に対する変化を、神経薬理学的方法を用いて観察し検討した。ウレタン麻酔したラットにおいて、脳内ノルアドレナリン系の主要な核である青斑核ニューロンの細胞外記録より観察した自発放電は、インデロキサジンのイオン泳動的投与中は抑制、投与終了後には逆に興奮と二相性変化を呈した。インデロキサジンによる抑制は、 α_2 受容体の特異的阻害剤であるピペロキサンで阻止された。同様の二相性反応はその経静脈的投与でも認められ、静注直後に青斑核ニューロンの自発放電は一過性に増加、以後次第に減少した。一方アマンタジンのイオン泳動的投与では、8個中2個のニューロンで発火頻度上昇を認めた以外には、特記すべき変化を認めなかった。次に青斑核ニューロンの終末膜興奮性に対する、これらの薬物の影響を調べた。青斑核ニューロンの投射部位である前頭葉皮質を電気刺激して、青斑核への逆行性スパイクが100%得られる際の刺激電流を刺激閾値と定め、その刺激閾値の変化を刺激部位への薬物の局所投与の前後で測定した結果、両薬物とも終末膜興奮性を低下させた。ピペロキサンの局所投与後に同部位で投与されたインデロキサジンは、刺激閾値に変化を与えなかった。これらの結果より、青斑核ニューロン細胞体の自発放電に対する作用は、トランスミッターの遊離促進または再取り込み阻害を主たる薬理作用とする薬物でも、その種類により異なり、また同一薬物でも濃度により異なることが示された。また細胞体と終末膜の反応は、同一薬物によっても一律ではないことが示唆された。

Key words locus coeruleus, noradrenaline, α_2 autoreceptor, iontophoresis, terminal excitability

橋に存在する青斑核 (locus coeruleus, LC) は脳内ノルアドレナリン (noradrenaline, NA) 系の中心をなす核であり、LC ニューロンは大脳皮質をはじめ中枢神経系に広く投射線維を送るとともに、LC ニューロン自身にも反回性に投射している¹⁾。一方 LC ニューロンは、細胞体や大脳皮質への投射線維終末に α_2 受

容体を有し²⁾、その活性化により自発放電や NA 遊離を抑制し、自己調節を行っていることが知られている。この自己抑制作用は外因的に投与された NA や、LC ニューロンの線維終末で NA 濃度を高める薬物の投与でも認められている³⁻⁵⁾。

本研究では、これらの LC ニューロンの細胞体と終

Abbreviations: AMA, amantadine; DNB, dorsal noradrenergic bundle; FC, frontal cortex; GLU, glutamate; IND, indeloxazine; IV, intravenous injection; LC, locus coeruleus; NA, noradrenaline; PIP, piperoxane

末膜での自己抑制作用が、NA 再取り込み阻害作用や遊離促進作用を持つ薬物で、一律に修飾を受けるか否かを調べることを目的とした。すなわち、この種の薬理作用を有する塩酸インデロキサジンと塩酸アマンタジンを脳内に投与し、神経薬理学的手法を用いて LC 細胞体と終末膜の興奮性を指標に実験を行い、2 薬物のノルアドレナリン作動性ニューロンに対する修飾の比較検討を行った。

材料および方法

I. 動物と前処置

雄 Sprague-Dawley ラット (200–400g) を 1.3g/kg のウレタン腹腔投与で麻酔した。動物の麻酔が浅

くなった際には、0.2–0.4g/kg のウレタンを追加投与した。人工呼吸必要時に備え気管カニューレを挿入後、定位脳固定装置 (成茂, 東京) に固定した。体温は $37 \pm 1^\circ\text{C}$ に保ち、全身状態の変化を知るために、肢誘導による心電図をオシロスコープ VC-10 (日本光電, 東京) 上に観察した。1% の塩酸リドカイン (藤沢アストラ, 東京) を頭皮下に注入し、頭蓋骨を露出した。

II. LC ニューロン電気活動の記録

LC ニューロン電気活動記録には、LC から大脳皮質への投射経路である背側ノルアドレナリン性線維束 (dorsal noradrenergic bundle, DNB) を電気刺激し、逆行性集合電位を捉えて LC の位置の同定を行う Nakamura らの方法⁹⁾を用いた。

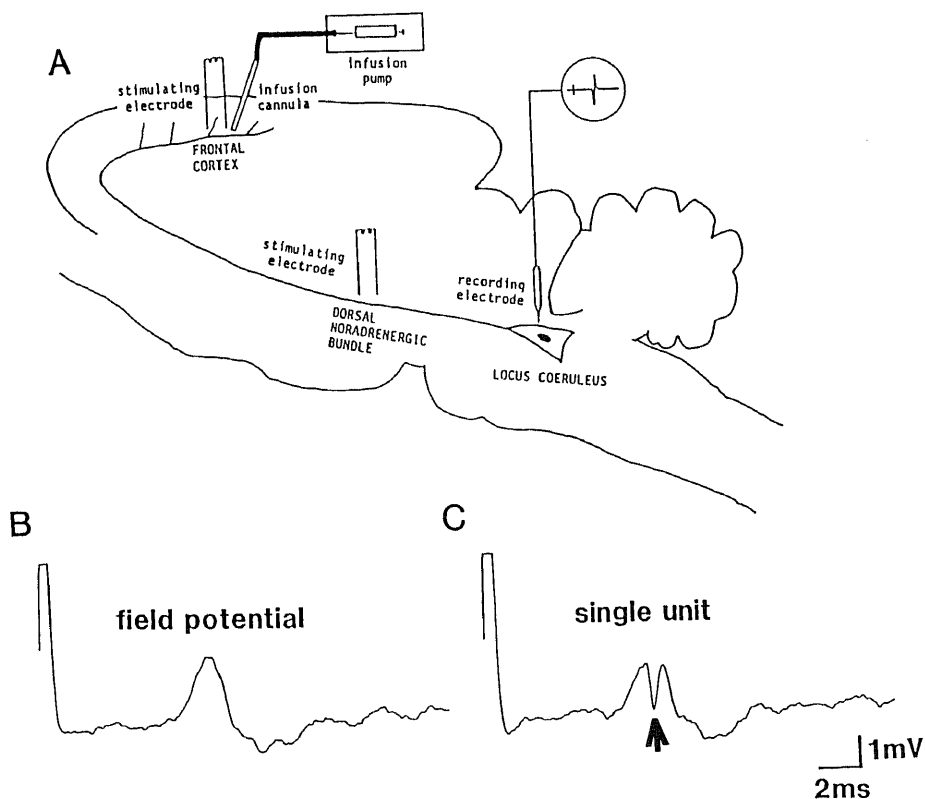


Fig. 1. A: Schematic diagram of methods for recording the electrical activity of locus coeruleus neurons and for testing terminal excitability. Bipolar stimulating electrodes were implanted into the dorsal noradrenergic bundle (DNB) and into the terminal field of locus coeruleus neurons in the frontal cortex. Single unit activity was recorded extracellularly in the locus coeruleus. Drugs were infused into the frontal cortex through an infusion cannula connected to an infusion pump. B, C: The field potential and action potential of an locus coeruleus neuron evoked antidromically by electrical stimulation of the DNB. The placement of a recording electrode in the locus coeruleus was verified by appearance of the field response.

刺激電極挿入のために、微小電極用ドリル(成茂)を用いラムダ縫合点より前に2.0mm, 左に0.8mmの点で穿孔した。双極刺激電極は、ウレタン被覆ステンレス銅線(ユニークメディカル, 大阪)を2本束ねて接着し、その先端を約0.5mmの距離をおいて切断して用いた。この電極をDNBに向けて、脳表より5.8mmの深さに挿入後固定した。記録電極のために、ラムダ縫合点より後ろに3.5mm, 左に1.2mmの点を中心に、約2-3mm四方に頭蓋骨を除去し、硬膜を取り除いた。3MのNaClまたは、ポンタミン・スカイブルー-0.5M酢酸ナトリウム2%溶液をつめたガラス管微小電極を、電動式マニピュレーター(成茂)を用いてLCに向けて、前傾15度の角度で挿入した(図1A)。

電気刺激装置 SEN-7203 (日本光電)を用いてDNBを0.5msec, 1Hz, 5mA, の方形波で電気刺激し、逆行性集合電位(field potential, 図1B)によりLCの位置を同定した。記録電極を僅かに進めてゆき、LCニューロンの単一の活動電位(図1C)を観察した。これらの活動電位は微小電極用増幅器 MEZ-8101 (日本光電)を介して、オシロスコープ上に確認すると同時に、磁気記録装置 A45 (ソニー・マグネスケール, 東京)に記録保存した。

必要に応じ実験終了後、刺激電極から0.2-0.3mAの直流通電を2-3秒間行い、先端周囲を焼却してDNBの刺激位置を確認した(図2A)。LCの記録場所は記録電極先端からイオン泳動的に投与したポンタミン・スカイブルー色素の位置を、組織学的に同定することで確認した(図2B, 2C)。

III. LC ニューロンの自発放電に対する薬物のイオン泳動的投与の効果

LCニューロンの自発放電に対するNA作動性薬物の影響をイオン泳動的投与により調べた。4連ガラス管微小電極のうち3連管からなる薬物電極に、1.0M塩酸インデロキサジン(YM-08054) (pH 5) (山之内製薬, 東京), 1.0M塩酸アマタジン(pH 5) (Sigma, USA), 0.5Mグルタミン酸ナトリウム(pH 7) (Sigma, USA), 0.5M塩酸ピペロキササン(pH 4) (Rhone-Pulanc, France)のうち2ないし3薬物をつめ、マイクロイオン注入装置 SEZ-1100 (日本光電)にて投与した。

薬物電極からの薬物の投与が良好に行われているか否かは、イオン泳動的に投与したグルタミン酸で、LCニューロンの自発放電頻度が増大することにより確認した。200nA以下のイオン泳動では、投与電流による電流効果の影響が認められなかったため、これ以下の電流を用いた。

IV. LC ニューロンの自発放電と脳波に対する全身的投与の効果

インデロキサジンについて、尾静脈より10mg/kg投与し、LCの自発放電の変化を、前頭葉皮質(frontal cortex, FC)より記録した脳波変化と対応させて観察した。

V. 終末膜興奮性に対する薬物の効果

Nakamura らの方法¹⁰⁾に従い、上記薬物のLC

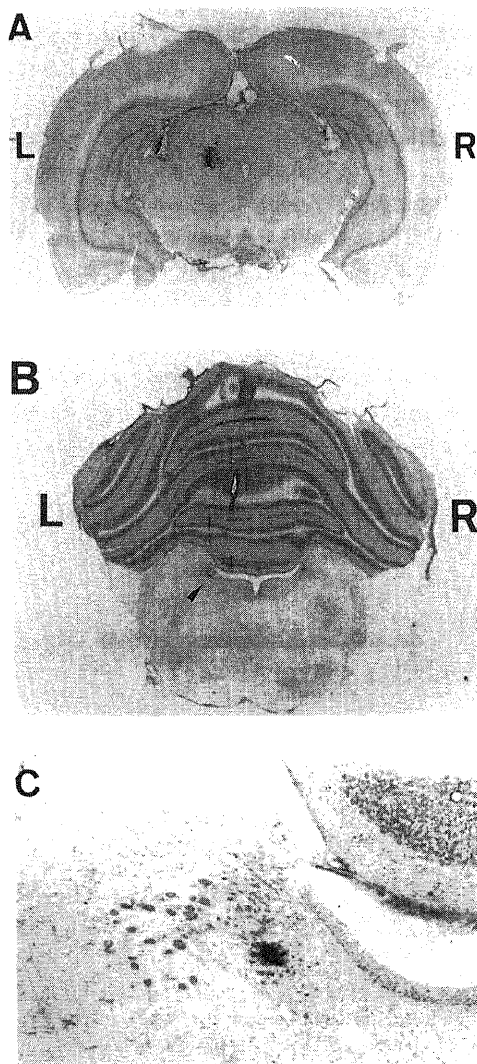


Fig. 2. Photomicrographs of the stimulating site in the dorsal noradrenergic bundle (A) and recording site in the locus coeruleus (B, C). The recording site was marked with pontamine skyblue delivered from the tip of a recording electrode.

ニューロン終末膜の興奮性に対する影響を、終末膜の電気刺激によるニューロンへの逆行性スパイク放電閾値の変化を指標として検討した。LCの終末部位であるFCを電気刺激するとともに薬物を投与するために、前実験と同様な手術操作に加えて、ブレグマ縫合点より前に3.0mm、左に2.5mmの点を中心に約3.0mm四方の頭蓋骨を除去し、硬膜を取り除いた。同部位に生理食塩水を満たした後、深さ1.5mmの同側FCに、刺激電極と30Gのステンレス製インフュージョンカニューレを設置した。刺激電極とインフュージョンカニューレの先端の距離は、0.5mm以内になるようにした。インフュージョンカニューレはポリエチレンチューブを用いて微量注入ポンプ(ニプロ、東京)に接続した。

インデロキサジン0.1mM、アマンタジン1mM溶液を微量注入ポンプを用いて $0.065\mu\text{l}/\text{min}$ で1-5分間局所注入した。FCを0.5ms, 0.5Hz, 10mA以下の電流で電気刺激し、LCへの逆行性スパイクの記録を行った(図1A)。FC刺激に対する逆行性スパイクで

あることは、順行性の自発放電との衝突試験によって確認した。衝突現象の無い状態で逆行性電位が100%出現する時の最低刺激電流を、逆行性スパイク放電閾値と定めた。

インデロキサジンについては、あらかじめ0.1mMのピペロキサンの局所投与($0.065\mu\text{l}/\text{min} \times 3-5$ 分)を行った状態で、閾値の変化が阻害されるか否かを見た。

局所投与を連続して異なるニューロンに対して行う場合、一度投与した薬物の、投与部位へ残存効果を防ぐために、次の投与部位は2mm以上離れた。1匹の動物での連続投与は4回までとした。

VI. 解析

異常の実験結果について、データ処理装置 ATAC-450(日本光電)を用いて解析を行った。

VII. 統計学的検定

終末膜興奮性に対する薬物の効果において、上記2薬物を投与する前後での、FCからLCへの逆行性スパイク放電閾値の上昇率、すなわち終末膜興奮性低下

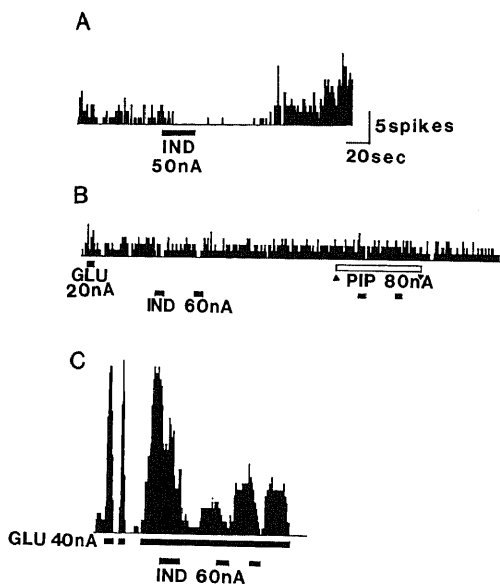


Fig. 3. The effects of iontophoretically applied indoxazine (IND) upon spontaneous activity of LC neurons. A: IND caused a marked inhibition of LC neuronal firing. B: IND caused inhibition of an LC neuronal firing at low rate, and the IND-induced inhibition was antagonized by adrenoceptor antagonist piperoxane (PIP). C: Glutamate-induced excitation of LC neuron was markedly attenuated by IND.

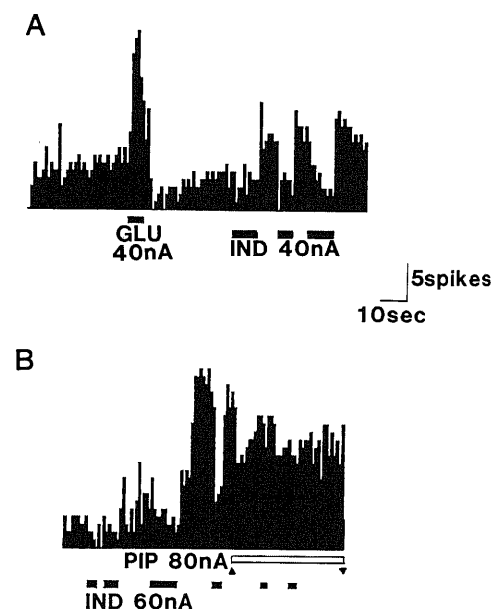


Fig. 4. The biphasic action of IND. A: The spontaneous firing of an LC neuron was reduced during application, while the firing increased immediately after stopping application of IND. Reapplication of IND again produced inhibition of firing. B: The inhibition was antagonized by the α_2 -adrenoceptor antagonist piperoxane, while the excitation also appeared to be attenuated.

率の平均値の差の検定は, student t test を用い, $p < 0.05$ 以下を有意とした。

成績

I. LC ニューロンの自発放電に対する薬物のイオン泳動的投与の効果

インデロキサジンのイオン泳動的投与では, 記録した24個の青斑核ニューロン中20個のニューロンで, 投与開始後5-10秒以内に自発放電に対する抑制を認めた(図3A)。他の4個のニューロンでは変化を認めなかった。この抑制効果は, 比較的発火頻度の少ない2個のニューロンでもみられた(図3B)が, あらかじめグルタミン酸で発火頻度を上昇させたニューロン($n=4$)で, より強く認められた(図3C)。自発放電の抑制効果が, LC ニューロンの反回性側枝から遊離された NA が, LC 細胞体や樹状突起にある α_2 受容体を賦活する現象を介するものか否かを確かめるために, α_2 受容体阻害剤であるピペロキサンを前投与した14個のニューロンでは, このうち10個のニューロンで, インデロキサジンの抑制効果が阻止された(図3B)。

インデロキサジンで抑制された20個のニューロンの内11個のニューロンで, 本薬物投与中止後に持続性の興奮が認められ, この状態下での再投与は全ての

ニューロンで著しい自発放電の抑制をもたらした(図4A, 4B)。この抑制反応もピペロキサンで阻止された($n=2$)(図4B)。

イオン泳動的に投与されたアマンタジンは, 8個のニューロンのうち, 6個で自発放電の発火頻度に変化を認めず(図5A), 2個で発火の増加を認めた(図5B)。

II. LC ニューロンの自発放電と脳波に対する薬物の全身投与の効果

LC ニューロンの自発放電は, 10mg/kg のインデロキサジン経静脈的投与($n=2$)によって, 投与直後に一過性の上昇が起こり, それに引き続いて投与約30秒後から著しい抑制を認めた(図6A)。同時に記録した脳波では, LC ニューロンの自発放電の変化に先立つ変化は見られず, 投与開始後1-3分以後で, 脱同期が観察された(図6B)。

III. 終末膜興奮性に対する薬物に対する効果

逆行性スパイク放電閾値の変化については, Nakamura らの報告¹⁰に従い, 投薬の前後で10%以上の変化を認めるものについてのみ, 閾値の有意の上昇, ないしは低下とした。0.1mM のインデロキサジンの FC への局所投与により, 10個のニューロン中8個で閾値の上昇を認め, その上昇率は $21.6 \pm 7.9\%$ であった(図7, 表1)。図7に示したニューロンについ

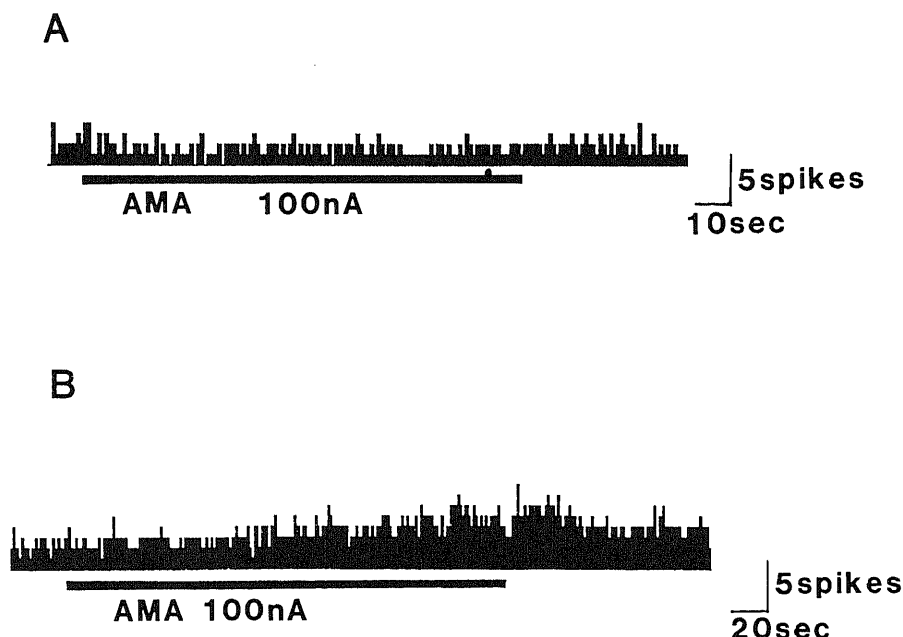


Fig. 5. The effects of iontophoretically applied amantadine (AMA) upon locus coeruleus neuronal firing. A: AMA failed to cause any notable change in spontaneous firing of an LC neuron. B: AMA produced a small increase in firing rate of an LC neuron.

て、インデロキサジン投与前後での、刺激電流と逆行性スパイク出現率の関係を図10Aに示した。逆行性スパイク出現率は、刺激電流の増加とともに急激に上昇し、この直線は投薬により刺激電流増大方向へのシフ

トを認めた。残りの2個のニューロンのうち、1個のニューロンはインデロキサジンの1分間の投与で僅か6.1%の閾値上昇を認めたが、4分間の再投与により閾値は、22%上昇した。他の1個は5分間の投与で

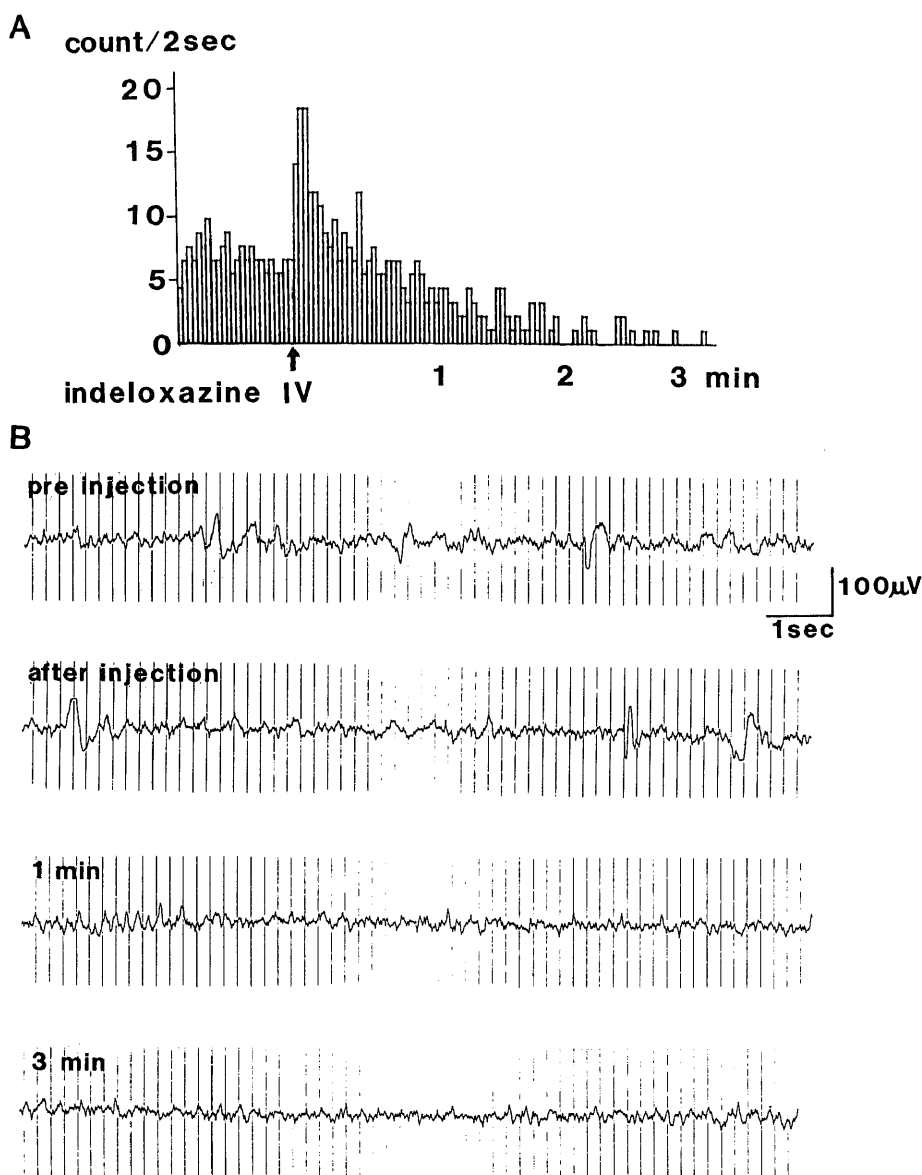


Fig. 6. The effects of intravenous injection of indeloxazine (10mg/kg) on spontaneous discharge of a locus coeruleus neuron, and a simultaneous recording of electroencephalogram (EEG). The black arrow indicates the start of the intravenous injection. The firing rate of the neuron transiently increased immediately after the injection of indeloxazine, and then gradually decreased. The EEG pattern became desynchronized approximately 1min after the injection.

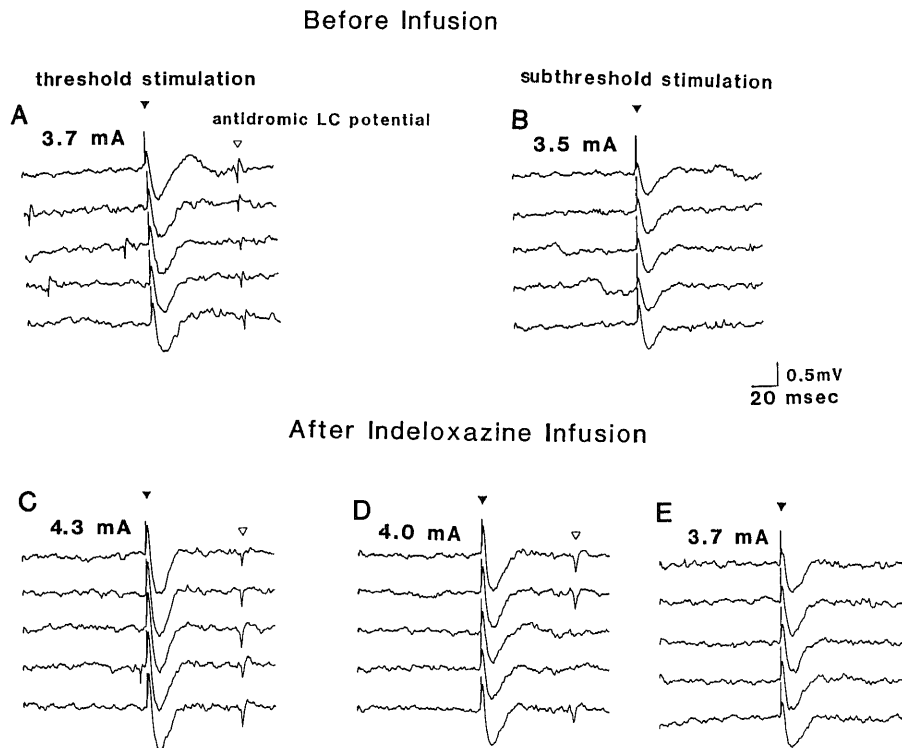


Fig. 7. Antidromic response to electrical stimulation of the terminal field of a locus coeruleus neuron in the frontal cortex prior to (A, B) and following (C, D, E) local infusion of indeloxazine. Prior to the infusion of indeloxazine, a stimulus current of 3.7 mA was sufficient to induce antidromic responses on all of the non-collision trials (A), whereas following the infusion, a current of 3.7 mA became ineffective in activating antidromic response (E) and 4.3 mA was required to produce 100% activation (C). The black triangles indicate the stimulus artifacts and the white triangles indicate the antidromic response.

Table 1. The effects of the local infusion of indeloxazine and amantadine on the terminal excitability of locus coeruleus neurons

Agent	N*	Terminal excitability		
		Decrease	Increase	No change
Indeloxazine	10	8 (21.6±7.9%)**	0	2
Piperoxane +	4	0	0	4
Indeloxazine				
Amantadine	9	6 (23.8±6.8%)	1	2

* N indicates the total number of cells tested

** Numbers in parentheses represent the mean increase in threshold current as per cent of control values ± S. E. M.

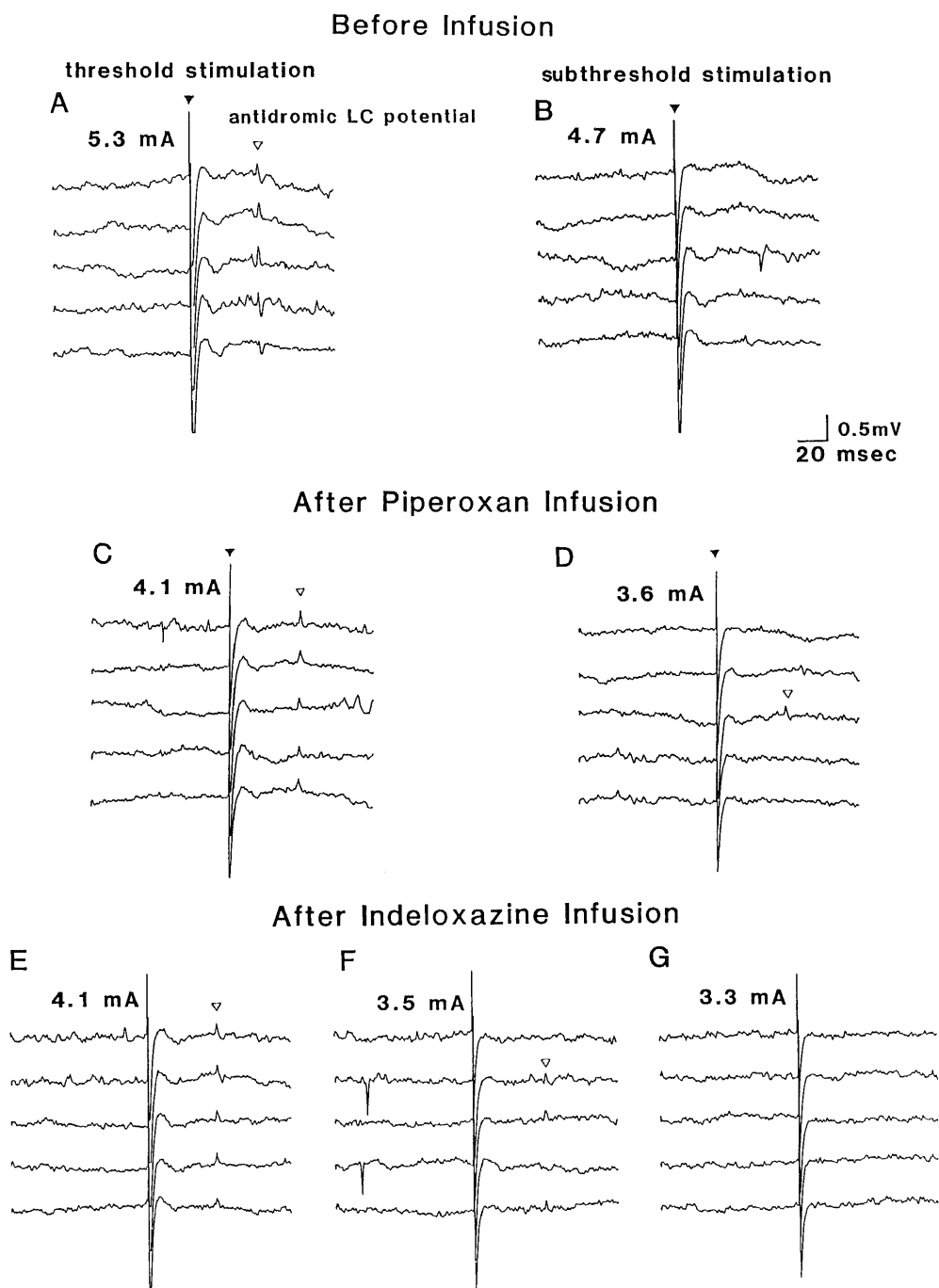


Fig. 8. The antagonizing effects of the α_2 -adrenoceptor antagonist piperoxane upon the indeloxazine-induced inhibition. Before the infusion of piperoxane, a stimulus current of 5.3 mA was sufficient to produce 100% of antidromic response (A) and 4.7 mA was far below threshold (B). Following pre-infusion of piperoxane, threshold current necessary to produce 100% activation was 4.1 mA (C) and a stimulus current of 3.6 mA was subthreshold (D). When local infusion of indeloxazine followed immediately after piperoxane infusion, 4.1 mA was still threshold (E). A stimulus current of 3.5 mA was subthreshold (F) and 3.3 mA was totally ineffective in activating antidromic response (G). The black triangles indicate the stimulus artifacts and the white triangles indicate the antidromic response.

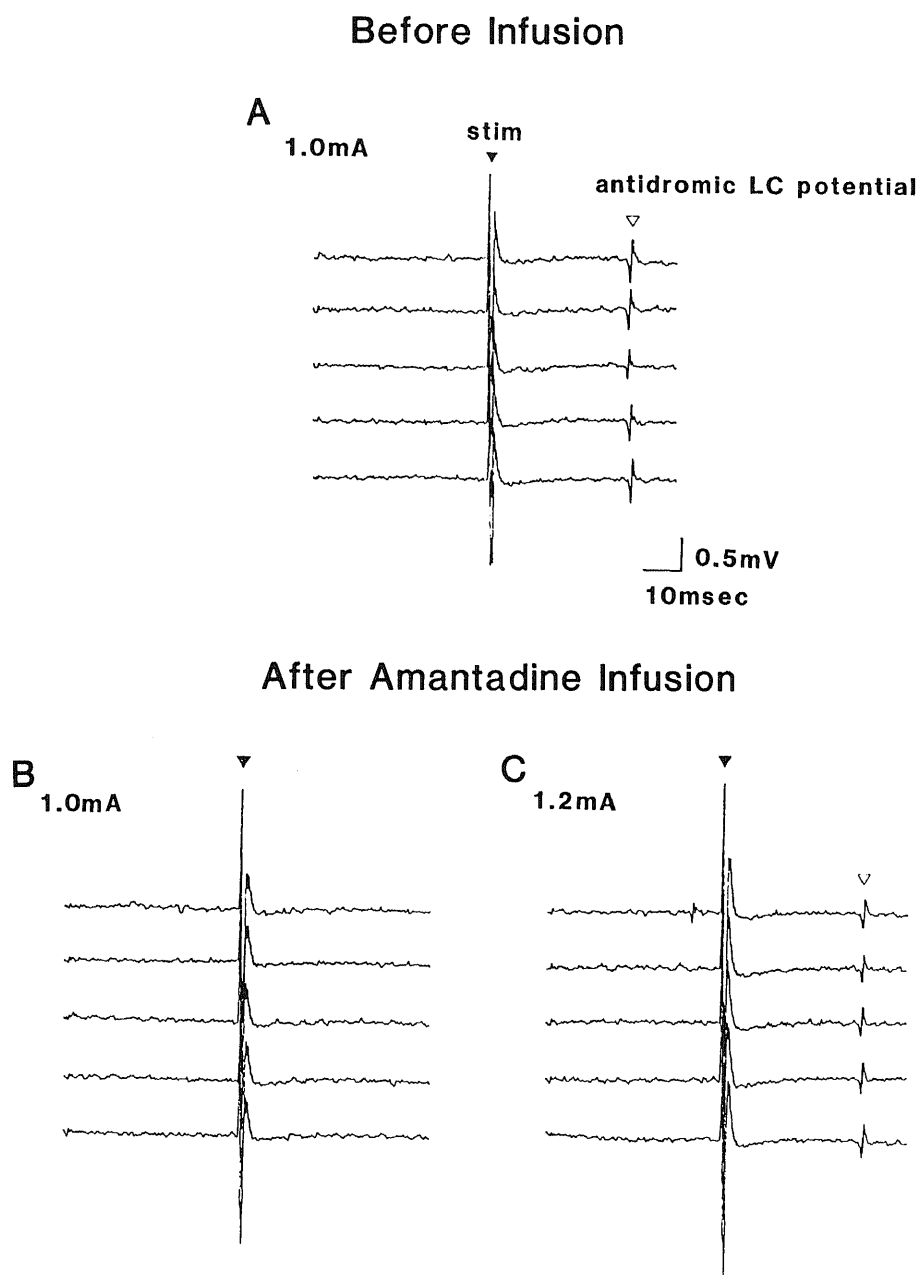


Fig. 9. The effects of local infusion of amantadine upon terminal excitability of LC neurons. Prior to the local infusion of amantadine, a stimulus current of 1.0 mA was sufficient for activating 100% of antidromic response (A), whereas following the infusion, 1.0 mA became totally ineffective (B) and 1.2 mA was required to produce 100% activation (C). The black triangles indicate the stimulus artifacts and the white triangles indicate the antidromic response.

9.7%の閾値上昇を認めるのみであった(表1)。また4個のニューロンで、ピペロキサジン(0.1mM)の3-5分の前投与により閾値は低下し、同一ニューロンでその後インデロキサジン(0.1mM)を5分間投与しても、インデロキサジン単独投与で認められたような閾値の変化は、認められなかった(図8, 表1)。

アマンタジンでは1.0mMで局所投与を行い、9例中6例で $23.8 \pm 6.8\%$ の上昇を認め(図9, 表1)、0.1mMインデロキサジンでの上昇率との有意の差は認められなかった。このニューロンでの、アマンタジンの投与前後の刺激電流と逆行性電位出現率の関係を図10Fに示した。インデロキサジン同様、直線の刺激電流増大方向へのシフトが認められた。残りのニューロンについては、1個で低下、2個で不変という成績であった(表1)。

考 察

定位脳手術下での薬物のイオン泳動的投与実験では、インデロキサジン投与でLCニューロンの自発放電に対する抑制を認め、 α_2 受容体遮断剤ピペロキサジンによりこれが阻止された。一方アマンタジンは、LCニューロンの自発放電に対して8個中2個の細胞でのみ興奮をもたらし、他の細胞では変化を与えなかった。

LCニューロンの軸索側枝の中には、反回性に青斑核ニューロン自身の細胞体や樹状突起へ投射するものがあることが形態学的に証明されている¹⁾。 α_2 受容体は青斑核ニューロンの細胞体自身に存在し²⁾、その役割は過分極を介した自発性放電の抑制¹¹⁾⁻¹³⁾にあると考えられている。これは、NAや α_2 受容体作動薬クロニジンが、全身およびイオン泳動的投与でLCの自発放電を抑制するというSvenssonの報告³⁾や、この抑制が α_2 受容体阻害剤ピペロキサジンで消失するとするCedarbaumら⁴⁾の実験等で証明されている⁶⁾⁻⁸⁾。

LCニューロン自体に、NA遊離促進や再取り込み阻害作用を持つ薬物を投与した際に、やはり α_2 受容体を介したLC自身への抑制が起こる可能性が考えられる。Nybackらはデシプラミン等の三環系抗うつ剤が、青斑核の自発放電を抑制することを報告している¹⁰⁾。インデロキサジンは、生化学的にNAの取り込み阻害作用を有することが証明されており¹⁷⁾、アマンタジンもアンフェタミンに類似でかつそれより弱い、NA遊離促進ないしは再取り込み阻害作用を持つとされている¹⁸⁾¹⁹⁾が、本実験の結果は自発放電の自己抑制に対する反応は一律ではなく、両薬物で異なることを示した。

さらにインデロキサジンのイオン泳動的投与中に抑制を認めたニューロンで、投与終了後、逆に興奮の傾

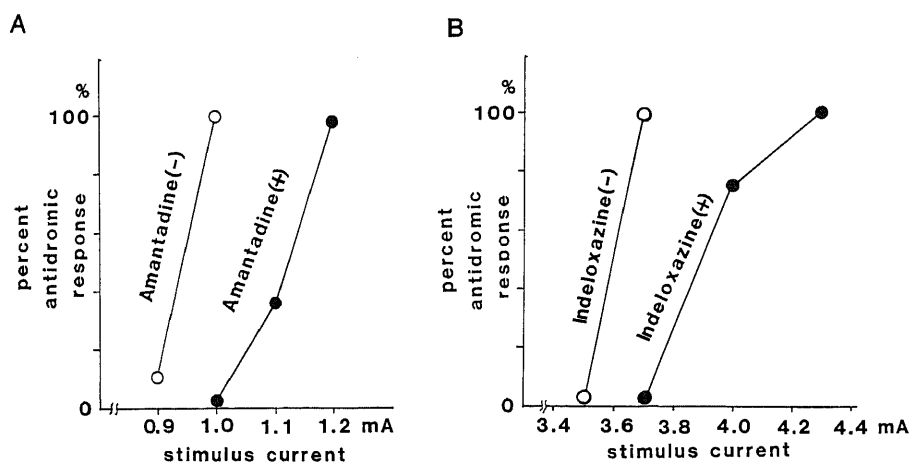


Fig. 10. Relationship of stimulus current and percent antidromic response before and after local infusion of amantadine and indeloxazine. A: Local infusion of 1 mM amantadine ($0.33 \mu\text{l}$) produced a decreased terminal excitability of LC neuron, as revealed by the increase in stimulus currents necessary to produce antidromic invasion. B: Local infusion of 0.1 mM indeloxazine ($0.2 \mu\text{l}$) produced a decreased terminal excitability of a LC neuron as revealed by the uniform increase in stimulus currents as necessary to produce antidromic activation. (○—○) before the drug infusion, (●—●) after the drug infusion.

向を認めた。また時間経過は逆であるが、全身投与の実験で、静注直後に LC ニューロン自発放電の一過性の興奮を認め、それ以後は逆に抑制された。したがって本薬物の効果は、LC 局所で高濃度の状態では抑制、拡散した状態や局所濃度が高まる前の状態では興奮と、二相性である可能性が考えられた。アマンタジンでは投与方法や時間経過に関わらず、有意の興奮は認めなかった。

インデロキサジンの低濃度での興奮作用の観察は、生後2週未満のラットの自発性発火頻度の少ない LC ニューロンに、低濃度のノルアドレナリンを投与した際に、細胞体の α_1 受容体を介する興奮が認められたる Nakamura らの結果²⁰⁾に類似している。反回性線維終末での NA 取り込み阻害により NA 濃度が増え、同様に α_1 受容体の活性化をきたした可能性は、今回用いたような成熟ラットで、青斑核ニューロンの細胞体に α_1 受容体は存在^{21,22)}はするが、これらを介した興奮作用は通常発現しない点²⁰⁾から否定的である。インデロキサジンは非常に弱いながらも α_1 受容体に対する親和性を持つことが示されているが²³⁾、同様の理由からインデロキサジンが α_1 受容体を直接賦活する可能性は少ないと思われる。LC ニューロンの細胞体や樹状突起には、アセチルコリン、サブスタンス P、グルタミン酸等の興奮性入力存在が確かめられており^{7,24-26)}、むしろインデロキサジンがこれらの興奮性入力系に作用して、興奮がもたらされた可能性の方が高いものと考えられる。

0.1mM の濃度のインデロキサジンは、FC の LC ニューロン投射終末でも、終末膜の興奮性を低下させた。この現象も α_2 受容体阻害剤であるピペロキサンの前投与で阻止された。一方アマンタジンの投射線維終末での局所投与では、インデロキサジンとほぼ同程度の終末膜興奮性の低下作用を得るために、インデロキサジンの10倍濃度の 1.0mM の薬物を必要とした。LC ニューロンの FC への投射線維終末膜には α_2 受容体が存在することが形態学的に知られている²⁾。生理学的にも、終末膜の α_2 受容体が活性化されると終末膜の過分極が起こるため、終末から LC への逆行性スパイクを生ずる刺激閾値が上昇することが、Nakamura ら¹⁹⁾により証明されている。彼らはアンフェタミンを FC に局所注入し、FC から LC への逆行性スパイクの刺激閾値低下を認めることより、この薬物が LC の神経終末で NE 遊離を促す可能性を論じている²⁰⁾。

インデロキサジンでも Nakamura らの終末膜へのアンフェタミン投与実験の結果と同様に、終末膜興奮

性の低下が認められ、これが α_2 受容体阻害剤で阻止されたことから、この現象は同薬物が LC ニューロンの終末部位でも NA 濃度を増やし、終末膜の α_2 受容体を活性化させて起こった結果と考えられる。またインデロキサジンの LC 細胞体での投与により、抑制、興奮の二相性反応を呈したのに対し、FC 終末膜での局所投与では時間経過に関わらず、LC への逆行性スパイクの刺激閾値に対する興奮作用は見られなかった。この相違は、FC での LC 細胞投射線維終末膜には、前述したような他の系からの興奮性入力が少ない⁷⁾ために、これらの影響を受けにくいことによると推察した。

アマンタジンも同様に線維終末で NA 遊離促進ないしは取り込み阻止作用を有する可能性が考えられたか、仮にこの作用を持つとしても、インデロキサジンや、Nakamura ら²⁰⁾の報告のアンフェタミンで効果のあった濃度に比してかなり高い濃度を用いても、0.1 mM のインデロキサジンと同程度の閾値の変化率しか得られないことから、その効果は比較的弱いものと推測された。終末膜興奮性に対する抑制的影響の強さの面でも、両薬物の効果には相違点が認められた。

以上の結果から、LC ニューロンの細胞体や前頭葉皮質終末膜での自己抑制作用に対する、ノルアドレナリン作動性修飾をもたらす薬物の影響は、作用機序の上では同様に線維終末での NA 濃度を高めるも、薬物の種類により一様でないことを明らかにした。また同一薬物でも細胞体と終末膜では異なった反応を示し、細胞体では薬物の局所濃度の変化により、抑制だけでなく興奮作用を認めることもあることが観察された。

結 論

NA 遊離促進または再取り込み阻害作用を持つ薬物の、LC ニューロンの自発放電に対する自己抑制作用と、同ニューロンの FC への投射線維終末膜興奮性に対する自己抑制作用への影響を調べた。インデロキサジンとアマンタジンの、LC ニューロン細胞体へのイオン泳動的投与と、FC の投射線維終末への局所投与を行い、これらの自己抑制作用に対する電気生理学的に検討した。DNB の電気刺激により LC への逆行性集合電位を促え、LC の位置を同定し、その自発放電を記録した。4 連ガラス管微小電極を用い、LC 細胞体へのイオン泳動的薬物投与による LC の自発放電の変化を観察した。さらに FC の投射終末へ薬物を局所注入し、同部位から LC への逆行性スパイクの刺激閾値の変化を見た。イオン泳動的に投与されたインデロキサジンは、低濃度で LC ニューロンの自発放電を増

加させ、高濃度では逆に抑制した。アマンタジンでは自発放電の変化は認めなかった。またインデロキサジン、LCニューロンへの逆行性スパイクの刺激閾値を上昇させた。アマンタジンも高濃度で逆行性スパイクの刺激閾値を増大させ、同様の作用は認められるが、効果は弱かった。以上よりLCニューロンの自己抑制作用は、LC-NA系の活動を賦活する薬物に対して一律の反応は示さず、同一の薬物でもその濃度や作用部位により、異なった反応を呈すると理解された。

謝 辞

稿を終えるに臨み、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜りました恩師高守正治教授に深甚の謝意を表します。また、本研究に際し御助力、御教示下さいました井手芳彦講師に深く感謝の意を表します。さらに、直接の御指導を賜りました本学第二生理学教室中村彰治助教授に衷心より感謝の意を捧げます。併せて貴重な材料を御提供いただきました第二生理学教室の諸先生方、並びに山之内製薬株式会社中央研究所新薬研究所の諸先生方に深く感謝いたします。最後に本研究中御協力いただきました教室員の皆様に感謝いたします。

本研究の要旨の一部は厚生省特定疾患神経変性疾患調査研究班会議(1988年2月)で発表した。

文 献

- 1) Shimizu, N. & Imamoto, K.: Fine structure of the locus coeruleus in the rat. *Arch. Histol. Jpn.*, **31**, 229-246 (1970).
- 2) Langer, S. Z.: Presynaptic regulation of the release of catecholamines. *Pharmacol. Rev.*, **32**, 337-362 (1981).
- 3) Svensson, T. H., Bunney, B. S. & Aghajanian, G. K.: Inhibition of both noradrenergic and serotonergic neurons in brain by the α -adrenergic agonist clonidine. *Brain Res.*, **92**, 291-306 (1975).
- 4) Cedarbaum, J. M. & Aghajanian, G. K.: Noradrenergic neurons of the locus coeruleus: inhibition by epinephrine and activation by the α -antagonist piperoxane. *Brain Res.*, **112**, 413-419 (1976).
- 5) Cedarbaum, J. M. & Aghajanian, G. K.: Catecholamine receptors on locus coeruleus neurons: pharmacological characterization. *Eur. J. Pharmacol.*, **44**, 375-385 (1977).
- 6) Aghajanian, G. K., Cedarbaum, J. M. & Wang, R. Y.: Evidence for norepinephrine-mediated collateral inhibition of locus coeruleus neurons. *Brain Res.*, **136**, 570-577 (1977).
- 7) Foote, S. L., Bloom, F. E. & Aston-Jones, G.: Nucleus locus coeruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol. Rev.*, **63**, 844-914 (1983).
- 8) Ennis, M. & Aston-Jones, G.: Evidence for self- and neighbor-mediated postactivation inhibition of locus coeruleus neurons. *Brain Res.*, **374**, 299-305 (1986).
- 9) Nakamura, S.: Some electrophysiological properties of neurons of rat locus coeruleus. *J. Physiol. (London)*, **267**, 641-658 (1977).
- 10) Nakamura, S., Tepper, J. M., Young, S. J. & Groves, P. M.: Neurophysiological consequences of presynaptic receptor activity: changes in noradrenergic terminal. *Brain Res.*, **226**, 155-170 (1981).
- 11) Aghajanian, G. K. & VanderMarlen, C. P.: α_2 -adrenoceptor-mediated hyperpolarization of locus coeruleus neurons: intracellular studies in vivo. *Science*, **215**, 1394-1396 (1982).
- 12) Egan, T. M., Henderson, G., North, R. A. & Williams, J. T.: Noradrenaline-mediated synaptic inhibition in rat locus coeruleus neurones. *J. Physiol. (London)*, **345**, 477-488 (1983).
- 13) Williams, J. T., Henderson, G. & North, R. A.: Characterization of α_2 -adrenoceptors which increase potassium conductance in rat locus coeruleus neurones. *Neuroscience*, **14**, 95-101 (1985).
- 14) Finlayson, P. G. & Marshall, K. C.: Hyperpolarizing and age-dependent depolarizing responses of cultured locus coeruleus neurons to noradrenaline. *Dev. Brain Res.*, **15**, 167-175 (1984).
- 15) Finlayson, P. G. & Marshall, K. C.: Locus coeruleus in culture have a developmentally transient α_1 adrenergic response. *Dev. Brain Res.*, **25**, 292-295 (1986).
- 16) Nybäck, H. V., Walters, J. R., Aghajanian, G. K. & Roth, R. H.: Tricyclic antidepressants: effects on the firing rate of brain noradrenergic neurons. *Eur. J. Pharmacol.*, **32**, 302-312 (1975).
- 17) Harada, M. & Maeno, H.: Biochemical characteristics of potential antidepressant, 2-(7-indenylloxymethyl) morpholine hydrochloride (YM-08054-1). *Biochem. Pharmacol.*, **28**, 2645-2651 (1979).
- 18) 森 襄, 佐藤義彦, 大橋健男, 人見正博: 抗

パーキンソン氏病薬 Amantadine の薬理. 日薬理誌, 70, 119-126 (1974).

19) Farnebo, L. O., Fuxe, K., Goldstein, M., Hamberger, B. & Ungerstedt, U.: Dopamine and noradrenaline releasing of amantadine in the central and peripheral nervous system: a possible mode of action in Parkinson's disease. Eur. J. Pharmacol., 16, 27-38 (1971).

20) Nakamura, S., Sakaguchi, T., Kimura, F. & Aoki, F.: The role of alpha-adrenoceptor-mediated collateral excitation in the regulation of the electrical activity of locus coeruleus neurons. Neuroscience, 27, 921-929 (1988).

21) Jones, L. S., Gauger, L. L. & Davis, J. N.: Anatomy of brain alpha-adrenergic receptors: in vitro autoradiography with [¹²⁵I]-HEAT. J. Comp. Neurol., 231, 190-208 (1985).

22) Jones, L. S., Gauger, L. L., Davis, J. N., Slotkin, T. A. & Bartolome, J. V.: Post-natal development of brain alpha-adrenergic receptors: in vitro autoradiography with [¹²⁵I]-HEAT in normal rats and rats treated with alpha-difluoromethylornithine, a specific, irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase. Neuroscience, 15,

1195-1202 (1985).

23) 寺井道夫, 黒岩 泉: Indeloxazine hydrochloride (YM-08054) の受容体結合に対する作用. 基礎と臨, 19, 4584-4588 (1985).

24) Marshall, K. C. & Finlayson, P. G.: Synaptic regulation of locus coeruleus neuronal activity. In: M. Avoli, T. A. Reader, R. W. Dykes & P. Gloor (eds.), Neurotransmitters and Cortical Function, in press Plenum Press (New York).

25) Guyenet, P. G. & Aghajanian, G. K.: Excitation of neurons in the nucleus locus coeruleus by substance P and related peptides. Brain Res., 136, 178-184 (1977).

26) Guyenet, P. G. & Aghajanian, G. K.: ACh, substance P and met-enkephalin in the locus coeruleus: pharmacological evidence for independent sites of action. Eur. J. Pharmacol., 53, 319-328 (1979).

27) Nakamura, S., Tepper, J. M., Young, S. J. & Groves, P. M.: Changes in noradrenergic terminal excitability induced by amphetamine and their relation to impulse traffic. Neuroscience, 7, 2217-2224 (1982).

Noradrenergic Modulation in Electrical Activities of the Locus Coeruleus-Cerebral Cortex System Yu Sugiyama, Department of Neurology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med. Soc., 98, 567—580 (1989)

Key words locus coeruleus, noradrenaline, alpha₂ autoreceptor, iontophoresis, terminal excitability

Abstract

Locus coeruleus neurons possess an auto-inhibitory mechanism mediated by an alpha₂ receptor in the cell body and a nerve terminal for spontaneous activity and for the release of noradrenaline. The present experiments were designed to determine if the auto-inhibition would be modulated uniformly by drugs possessing an ability to inhibit reuptake of noradrenaline and/or to release noradrenaline from the terminals of central noradrenergic neurons. In rats anesthetized with urethane, single unit activity was recorded extracellularly from the neurons of the locus coeruleus, the largest nucleus of the noradrenergic system in the rat brain. Iontophoretic application of indeloxazine caused a biphasic effect on the spontaneous firing of locus coeruleus neurons so that the firing was inhibited during application of indeloxazine, followed by a marked increase in firing after the termination

of application. The indeloxazine-induced inhibition was attenuated by iontophoretic application of the specific α_2 -antagonist, piperoxane. A similar but opposite biphasic effect was noted following an intravenous injection of indeloxazine: the injection of the drug resulted in a transient increase followed by a decrease in firing rate. Iontophoretic application of amantadine produced no notable change in the spontaneous firing of locus coeruleus neurons, though some neurons showed a small increase in firing. To assess the effects of the drugs upon the terminal excitability of locus coeruleus neurons, threshold currents to produce antidromic responses to 100% of stimulation of the frontal cortex were measured before and after local infusion of the drugs into the stimulus sites. Both indeloxazine and amantadine were found to decrease the terminal excitability. Indeloxazine did not produce the decreased terminal excitability, when piperoxane was infused prior to the infusion of indeloxazine. These results indicate that the auto-inhibitory effects of two drugs on the activity of locus coeruleus-cerebral cortex system are not common in terms of mode and site of action.